

## 利用基因轉殖昆蟲以防治害蟲

### ■ 前言

中興大學昆蟲系 路光暉

農業耕作過程中，作物會受到有害昆蟲為害，一直是不可避免的問題。為了避免作物遭受為害而減損其經濟價值，往往需設法將害蟲防除。自從二次世界大戰期間，以化學合成方式製造了DDT，有效地防治許多害蟲以來，長期以往人們都依賴著各種化學殺蟲劑，以達減少作物受損的目的。然而，長期大量使用化學殺蟲劑的結果，近年來已出現許多問題，重要者如害蟲抗藥性的產生，此不但使殺蟲劑使用量更形增加，亦導致新殺蟲劑的開發變得更形困難；又如，大量使用藥劑導致藥劑殘留與環境污染等問題，嚴重影響人們的生活品質與生命安全。

為避免化學殺蟲劑的為害，害蟲的防治逐漸走向多種防治策略共同運用的綜合防治 (integrated pest control)，其中生物防治 (biological control) 即為替代方案之一。在諸多生物防治技術中，不孕性昆蟲技術 (sterile insect technique, SIT) 亦屬其中之一。不孕性昆蟲技術主要係將害蟲經由高能輻射線 (如加馬射線) 照射處理，以破壞其生殖細胞 (特別是雄蟲的精子) 中的遺傳物質，再將之大量釋放於田間。經過輻射照射處理過後的雄蟲仍具交尾能力，但由於其精子內之遺傳物質已遭到破壞，與其交尾之雌蟲所產下的卵並無法正常發育，如此以達到抑制害蟲數目的目的。台灣於1975-1984年間，也曾應用此一技術防治東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis* (Hendel))，並達防治效果，但終因政府政策改變而終止，改採食餌誘殺滅雄法防治此害蟲，並一直沿用迄今 (Liu, 2002)。不孕性昆蟲技術雖被認為是種安全，有效且對環境衝擊性較低的害蟲防治方法，但是由於經過輻射照射處理的雄蟲，其在田間的適應與競爭能力通常不如野生者，如此野生雄蟲仍較經處理的雄蟲具與雌蟲交尾的機會，而使得防治害蟲的效果大打折扣，往往需要以淹沒式的極大量釋放，方足以達到效果；另一個潛在的問題源於不孕性技術處理過程並未能將雌雄性分開，兩性同時釋放的結果，其中雌蟲並不具防治效果，但本身卻可能對作物造成為害，例如輻射處理過的果實蠅雌蟲，繁衍後代的能力雖受到破壞，但還是因仍具有產卵行為而“螫叮”果實，造成果實的為害。

現今，現代遺傳學與分子生物學儼然已成為生物學研究的主流，許多研究均依此為探討問題的根本。就不孕性昆蟲技術而言，為避免上述輻射照射處理導致的不利因子，近年來，學者們開始著手應用分子生物學的技術，期能利用基因轉殖改造蟲體，以達防治害蟲的目的。

## 利用基因轉殖昆蟲以防治害蟲

### ■ 基因轉殖昆蟲的研究

外來基因是否能被轉殖入昆蟲基因體上，主要取決於基因轉殖的載體 (vector) ——轉位子 (transposon或transposable element) 是否能在欲進行基因轉殖蟲體內發揮其功能。昆蟲基因轉殖的研究工作，始自20年前Rabin和Spradling (1982) 於黃果蠅 (*Drosophila melanogaster*) 基因體 (genome) 中發現具基因轉位功能的P-transposable-based system，而使得外來基因轉殖入果蠅的工作得以進行，許多果蠅基因功能的研究因而獲致豐碩的成果；然而，此轉位子在非果蠅類昆蟲 (non-drosophilid insect) 則失去其功能，致使其他昆蟲的基因轉殖研究仍呈停滯狀態。過去七、八年以來，由於轉殖技術的改良與更多轉位子的發現，如Minos, Hermes, piggyBac和mariner等等，使得基因轉殖在非果蠅類昆蟲 (特別是農業與環境衛生上重要害蟲) 因而得以進行。在此四類不同的轉位子中，其中又以piggyBac最被廣為使用，特別是在具經濟重要性的害蟲，如地中海果實蠅 (*Ceratitis capitata*) (Handler et al., 1998)、加勒比海果實蠅 (*Anastrepha suspensa*) (Handler and Harrell II, 2001)、紅鈴蟲 (*Pectinophora gossypiella*) (Peloquin et al., 2000)、擬穀盜 (*Tribolium castaneum*) (Berghammer et al., 1999) 和家蠶 (*Bombyx mori*) (Tamura et al., 2000) 等均已轉殖成功，此包括了雙翅目 (Diptera)、鱗翅目 (Lepidoptera) 和鞘翅目 (Coleoptera) 等科昆蟲。

這些非果蠅類昆蟲的轉殖成功，使得應用此技術於農業與衛生害蟲防治上的研究得以展開。藉由此技術 (a) 可以轉殖標誌基因於害蟲體內，用以偵測其分布能力與分布範圍或 (b) 可以轉殖入特定基因，使之產生不孕性，以達防治效果。

### ■ 基因轉殖昆蟲應用於害蟲不孕性防治的原理

目前，基因轉殖應用於害蟲不孕性防治方面的研究成果，仍止於以果蠅為對象 (Alphey, 2002; Heinrich and Scott, 2000; Thomas et al., 2000)，其基本原理如圖一所示。在此基因調控系統中，需轉殖的基因構築可分為兩個部分：一、在寄主昆蟲特定基因調節序列之啟動子 (promoter) 後接合一四環黴素抑制之轉錄活化子 (tetracycline repressible transcriptional activator, 簡稱tTA) (圖一左)；二、在tTA調節序列後結合一細胞致死蛋白基因 (如細胞自戕基因 (apoptotic gene) 或其他有毒蛋白基因) (圖一右)。將此兩轉位子的構築同時轉殖入果蠅後，藉助於昆蟲本身調控啟動子的能力，使整個系統發揮功能。轉殖成功的個體，因為此系統所使

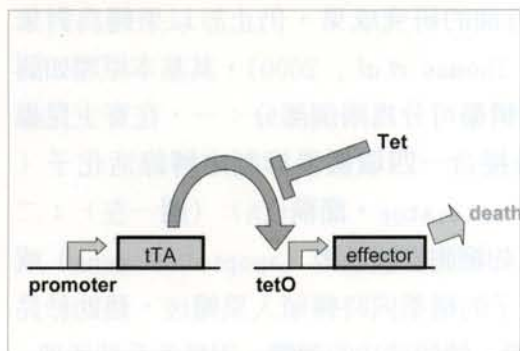
## 利用基因轉殖昆蟲以防治害蟲

用的啓動子屬卵黃原蛋白基因，以致於其後的tTA基因僅會在雌成蟲卵開始發育的同時被啓動，而所合成的tTA接著刺激其所調控的致死蛋白基因表現，最後產生的致死蛋白導致細胞及蟲體的死亡；由於四環黴素可以抑制tTA的作用，使之無法刺激致死基因表現，因此若於飼養果蠅的飼料中添加四環黴素，則蟲體得以正常存活。相反地，由於卵黃蛋白基因並不會在其他蟲期（卵、幼蟲和蛹）及雄成蟲體內表現，也因此此系統無法在這些個體內表現，更不致影響其存活。

至於此調控系統將如何運用於不孕性昆蟲技術防治害蟲？首先，於大量飼養基因轉殖蟲源時，在飼料中缺乏四環黴素的情況下，雌蟲會因體內的轉殖毒蛋白得以表現而無法存活，因此能夠存活下來的都是雄蟲。如此，當將之大量釋放於田間時，可以避免雌蟲對作物所可能造成的為害；其次，釋放田間的基因轉殖雄蟲與野生雌蟲交尾後，雖不至立刻造成雌蟲不孕，但是轉殖的基因系統會經由雄蟲進入子代的基因體中，當帶有此轉殖基因的後代蟲體成長時，因田間並不存在四環黴素，以致於當它們成長至成蟲時，雌蟲會因為基因系統的表現而致死，因而無法生殖後代，蟲口自然會因而降低；至於雄蟲則因系統不會啓動而得以存活，並可再次地經由交尾將此基因系統於蟲群間散播，如此長期循環的結果即可以達防治害蟲的目的。

另外，最近相關的研究中，Horn和Wimmer（2003）更發展出一種可導致胚胎死亡的基因轉殖系統，此系統不但可於胚胎發育時即達到抑制蟲口數的目的，同時也因胚胎時期個體即死亡，對生態系所可能造成的衝擊可謂相當的低。

在臺灣，關於昆蟲的基因轉殖研究主要仍以果蠅為材料，且著重於基因功能的分析，至於果蠅以外昆蟲的相關研究才剛起步。筆者過去幾年在行政院國科會的經費補助下，就基因表現層次進行了東方果實蠅卵黃原蛋白基因表現調控機制方面的研究；在此基礎之下，2003年起更獲行政院農委會動植物防疫檢疫局經費補助，轉而開始進行以基因轉殖防治東方果實蠅方面的探討，期望開發出利用現代分子生物學技術防治此一重要害蟲的方法。



圖一、轉殖基因調控系統示意圖。tTA：四環黴素調控之基因活化子（tetracycline repressible transcriptional activator）；tetO：tTA調節位；Tet：四環黴素（tetracycline）；promoter：啓動子；effector：致死蛋白基因。

（摘自Alphey, 2002）

## 利用基因轉殖昆蟲以防治害蟲

### ■ 基因轉殖昆蟲釋放田間可能遭遇的問題

基因轉殖昆蟲是否適用於害蟲防治，首先需考量的一個問題是——基因轉殖是否影響昆蟲在環境中的適應力與競爭力。由於昆蟲基因體被殖入外來基因，如同發生突變 (mutation)，難免會對蟲體產生影響；再加上為求轉殖基因在接受轉殖的群體內之穩定性，必須藉回交 (backcross) 以及利用少數轉殖成功個體間自交的方式達到保持轉殖基因的同質性 (homogeneity)，此過程亦會使得同質隱性基因 (recessive allele) 出現的機會增加，而容易造成蟲群弱勢，降低其與野生雄蟲交尾競爭能力。如何避開此等問題的發生，則是篩選策略上的一個重要考量。

另外，由於缺乏實際經驗，未來實際運用此等害蟲防治技術時，必須要特別注意其對生態環境所可能造成的衝擊，例如轉殖的基因是否會在非標的生物間轉移而危害其他生物甚或人類等？為避免此一情況發生，使用之前必須做嚴謹的評估。

### ■ 結語

雖然利用基因轉殖技術以達害蟲防治的研究成果，尚未真正應用在實際田間的害蟲防治，其成效如何？仍待持續地驗證。然而由於昆蟲的基因轉殖技術日益純熟，此類技術在害蟲防治之應用已指日可待。關於基因轉殖昆蟲釋放田間的安全性問題，則可在使用之前，結合分子生物學家、族群演化學家、昆蟲學家、生態學家和害蟲管理學家等共同協力制定一套完整的管理規則，並在此有效的管理下應用此法，當可消弭人們的疑慮。



## ■ 參考文獻

1. Alphey, L. 2002. Re-engineering the sterile insect technique. *Insect Biochem. Molec. Biol.* 32: 1243-1247.
2. Berghammer, A. J., M. Klingler, and E. A. Wimmer. 1999. A universal marker for transgenic insects. *Nature* 402: 370-371.
3. Handler, A. M., and R. A. Harrell II. 2001. Transformation of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*, with a piggyBac vector marked with polyubiquitin-regulated GFP. *Insect Biochem. Molec. Biol.* 31: 199-205.
4. Handler, A. M., S. D. McCombs, M. J. Fraser, and S. H. Saul. 1998. The lepidopteran transposon vector, piggyBac, mediates germ-line transformation in the Mediterranean fruit fly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 7520-7525.
5. Heinrich, J. C., and M. J. Scott. 2000. A repressible female-specific lethal genetic system for making transgenic insect strains suitable for a sterile-release program. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 8229-8232.
6. Horn, C., and E. A. Wimmer. 2003. A transgene-based, embryo-specific lethality system for insect pest management. *Nat. Biotechnol.* 21: 64-70.
7. Liu, Y.-C. 2002. A review of studies and controls of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis* (Hendel)) and the melon fly (*B. cucurbitae* Coquillett) in Taiwan (Diptera: Tephritidae). In S.-C. Wang, C.-C. Ho, C.-C. Chen and W.-H. Chen (ed): *The Symposium on Insect Ecology and Fruit Fly Management.*, Taichung, Taiwan, ROC, pp. 1-40. (in Chinese)
8. Peloquin, J. J., S. T. Thibault, R. Staten, and T. A. Miller. 2000. Germ-line transformation of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) mediated by the piggyBac transposable element. *Insect Mol. Biol.* 9: 323-333.
9. Rubin, G. M., and A. C. Spradling. 1982. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science* 218: 348-353.
10. Tamura, T., C. Thibert, C. Royer, T. Kanda, E. Abraham, M. Kamba, N. Komoto, J. L. Thomas, B. Mauchamp, G. Chavancy, P. Shirk, M. Fraser, J. C. Prudhomme, and P. Couble. 2000. Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a piggyBac transposon-derived vector. *Nat. Biotechnol.* 18: 81-84.
11. Thomas, D. D., C. A. Donnelly, R. J. Wood, and L. S. Alphey. 2000. Insect population control using a dominant, repressible, lethal genetic system. *Science* 287: 2474-2476.